

PCT/JP03/08878

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

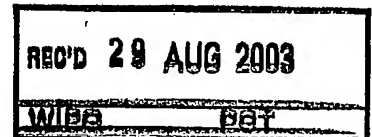
11.07.03

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日      2 0 0 2 年    7 月 2 2 日  
Date of Application:

出 願 番 号      特 願 2 0 0 2 - 2 1 2 2 8 8  
Application Number:  
[ST. 10/C]:      [ J P 2 0 0 2 - 2 1 2 2 8 8 ]



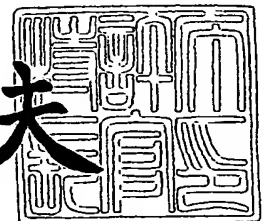
出 願 人      千 寿 製 薬 株 式 有 限 公 司  
Applicant(s):

**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1 (a) OR (b)

2 0 0 3 年    8 月 1 4 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今 井 康 夫



出 証 番 号    出 証 特 2 0 0 3 - 3 0 6 5 6 3 9

【書類名】 特許願  
【整理番号】 586-02  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【国際特許分類】 A61K 31/18  
A61K 38/05  
C07C235/74  
C07C311/16

## 【発明者】

【住所又は居所】 兵庫県神戸市北区泉台 3 丁目 1 6 番地の 1 0

【氏名】 中村 雅之

## 【発明者】

【住所又は居所】 兵庫県神戸市須磨区白川字不計 1 番地の 6 6 0 3 号

【氏名】 井上 淳

## 【特許出願人】

【識別番号】 000199175

【氏名又は名称】 千寿製薬株式会社

【代表者】 吉田 祥二

## 【代理人】

【識別番号】 100118360

## 【弁理士】

【氏名又は名称】 松田 玲子

## 【手数料の表示】

【予納台帳番号】 004167

【納付金額】 21,000円

## 【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0104918

【ブルーフの要否】 要

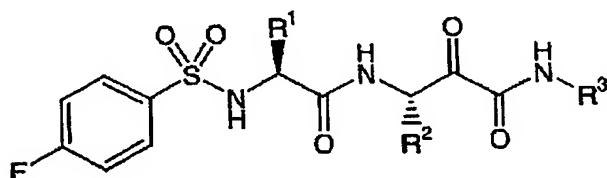
## 【書類名】 明細書

【発明の名称】 新規  $\alpha$ -ケトアミド誘導体およびその用途

## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 下記一般式

【化 1】



[式中、 $R^1$ 、 $R^2$  および  $R^3$  はそれぞれ低級アルキル基を示す。] で表される化合物。

【請求項 2】 請求項 1 記載の化合物を含有する医薬。

【請求項 3】 カルパイン阻害剤である請求項 2 記載の医薬。

【請求項 4】 カルパインが関与する疾患の予防または治療剤である請求項 2 記載の医薬。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

## 【発明の属する技術分野】

本発明はカルパイン阻害活性を有する新規  $\alpha$ -ケトアミド誘導体に関する。また、本発明は新規  $\alpha$ -ケトアミド誘導体を含有する医薬に関する。

【0002】

## 【従来の技術】

カルパインは生体内に広く分布する細胞質内のタンパク分解酵素の一つであり、カルシウムイオンで活性化される。現在では、このカルパインの異常な活性化が脳卒中、クモ膜下出血、アルツハイマー病、虚血性疾患、筋ジストロフィー、白内障、血小板凝集、関節炎などの種々の疾患に関与していることが明らかとなっている [Trends in Pharmacological Sciences, 15 巻, 412 頁 (1994 年)]。一方、カルパイン阻害剤は水晶体培養による実験的白内障モデルにおいて、水晶体の透明維持に効果があり [Cu

rr. Eye Res., 10巻, 657-666頁(1994年)]、白内障治療剤(WO93/23032)などとして有用であることがわかってきている。これまで報告されているカルパイン阻害剤としては、ペプチドハロメタン誘導体(特公平6-29229)、ペプチドジアゾメタン誘導体[Biochem. J., 253巻, 751-758頁(1988年)、J. Med. Chem., 35巻, 216-220頁(1992年)]、ペプチジルアルデヒド誘導体(特開平10-147564など)などが挙げられるが、これらの阻害剤は、未だ実用化されていないのが現状である。

### 【0003】

#### 【発明が解決しようとする課題】

カルパイン阻害活性を有する化合物を提供することである。

### 【0004】

#### 【課題を解決するための手段】

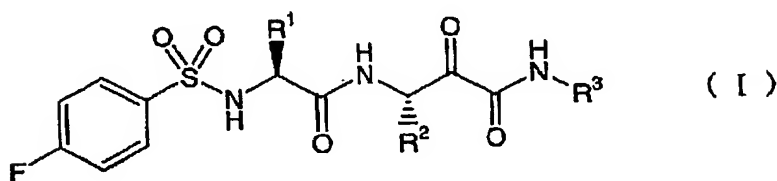
本発明者らは上記の課題を解決すべく鋭意研究した結果、強いカルパイン阻害活性を有する $\alpha$ -ケトアミド誘導体を創製し、さらに研究を進め本発明を完成した。

### 【0005】

すなわち、本発明は、

#### (1) 下記一般式(I)

#### 【化2】



[式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>およびR<sup>3</sup>はそれぞれ低級アルキル基を示す。]で表される化合物、

(2) 上記(1)記載の化合物を含有する医薬、

(3) カルパイン阻害剤である上記(2)記載の医薬、および

(4) カルパインが関与する疾患の予防または治療剤である上記(2)記載の医

薬に関する。

【0006】

上記一般式 (I) 中、 $R^1$ 、 $R^2$  および  $R^3$  で表される低級アルキル基としては、炭素数 1～6 の直鎖状または分枝状アルキル基が好ましく、具体的にはメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチル、1-メチルブチル、2-メチルブチル、1, 2-ジメチルプロピル、ヘキシル、1-メチルペンチル、2-メチルペンチル、3-メチルペンチル、4-メチルペンチル、1, 1-ジメチルブチル、1, 2-ジメチルブチル、1, 3-ジメチルブチル、2, 2-ジメチルブチル、2, 3-ジメチルブチル、3, 3-ジメチルブチル、1-エチルブチル、2-エチルブチル、1-エチル-2-メチルプロピル、1, 1, 2-トリメチルプロピルが挙げられる。より好ましくは炭素数 3～4 の直鎖状または分枝状アルキル基である。 $R^1$  で表される低級アルキル基としてはイソプロピルが、 $R^2$  で表される低級アルキル基としてはイソブチルが、 $R^3$  で表される低級アルキル基としてはブチルが特に好ましい。

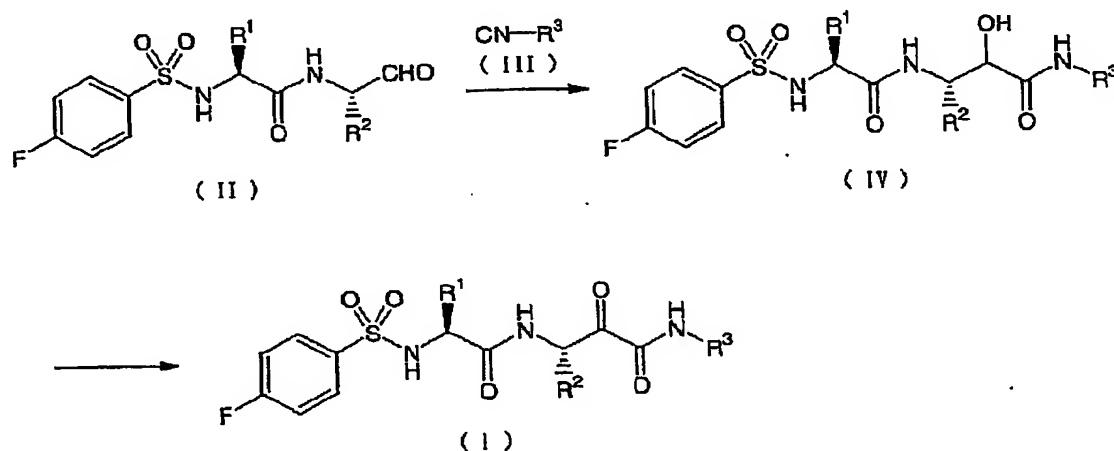
【0007】

さらに、本発明は、本発明化合物 (I) および本発明化合物 (I) の各種の溶媒和や結晶多形の物質並びにプロドラッグをも包含する。

【0008】

本発明の化合物は、例えば下記反応式

## 【化3】



[式中、各記号は前記と同意義である。] により製造することができる。

## 【0009】

例えば特開平10-147564号公報記載の方法により合成される一般式 (I I) で表されるペプチジルアルデヒド化合物 [以下、化合物 (I I) と記載することもある。] と一般式 (I I I) で表されるイソシアニド試薬 [以下、化合物 (I I I) と記載することもある。] を通常使用される有機溶媒に溶解し、トリフルオロ酢酸およびピリジンの存在下、Passerini 反応 [Org. Lett., 2 巻, 2769-2772 頁 (2000 年)] に付すことにより、一般式 (I V) で表される化合物 [以下、化合物 (I V) と記載することもある。] を得ることができる。通常使用される有機溶媒としては、例えばジクロロメタン、N, N-ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、テトラヒドロフラン、メタノール、エタノール、ベンゼン、トルエン、酢酸エチルなどのような反応に悪影響をおよぼさない慣用の溶媒またはそれらの混合溶媒が挙げらるが、好ましくはジクロロメタンである。イソシアニド試薬の使用量は化合物 (I I) に対して約 1 ~ 約 10 倍モル当量で、好ましくは約 1 ~ 約 2 倍モル当量である。トリフルオロ酢酸の使用量は化合物 (I I) に対して約 1 ~ 約 20 倍モル当量で、好ましくは約 1 ~ 約 3 倍モル当量である。ピリジンの使用量は化合物 (I I) に対して約 1 ~ 約 20 倍モル当量で、好ましくは約 3 ~ 約 5 倍モル当量である。反応温度は、好ましくない副反応が起こらない範囲であれば特に限定されず、通常

冷却下、室温または加温下で行われるが、好ましくは氷冷下から室温の範囲である。

#### 【0010】

さらに、化合物 (IV) を酸化反応に付することにより、化合物 (I) を得ることができる。該酸化方法としては、例えばクロム酸酸化に分類される二クロム酸ピリジニウム (PDC) 酸化、クロロクロム酸ピリジニウム (PCC) 酸化、ジョーンズ (Jones) 酸化、コリンズ (Collins) 酸化、またはジメチルスルホキド (DMSO) 酸化に分類されるスワン (Swern) 酸化、DMSO-三酸化硫黄ピリジン錯体による酸化、DMSO-ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) による酸化、DMSO-塩化オキサリルによる酸化、またはデスーマーチン試薬 (Desse-Martin periodinane) を用いるデスーマーチン酸化、次亜ハロゲン酸による酸化、N-ハロゲノカルボン酸アミドによる酸化など、自体公知の方法を使用することができるが、とりわけデスーマーチン酸化が好ましい。デスーマーチン酸化を用いて酸化する場合は、化合物 (IV) を通常使用される有機溶媒に溶解し、デスーマーチン試薬を加えることを行うことができる。通常使用される有機溶媒としては、例えばジクロロメタン、N, N-ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキド、テトラヒドロフラン、メタノール、エタノール、ベンゼン、トルエン、酢酸エチルなどのような反応に悪影響をおよぼさない慣用の溶媒またはそれらの混合溶媒が挙げらるが、好ましくはジクロロメタンである。デスーマーチン試薬の使用量は化合物 (IV) に対して約 1 ~ 約 20 倍モル当量で、好ましくは約 1 ~ 約 3 倍モル当量である。反応温度は、好ましくない副反応が起こらない範囲であれば特に限定されず、通常冷却下、室温または加温下で行われるが、好ましくは氷冷下から室温の範囲である。このようにして得られるケトアミド誘導体は公知の分離精製手段、例えば濃縮、減圧濃縮、溶媒抽出、晶出、再結晶、転溶、クロマトグラフィーなどにより単離精製することができる。

#### 【0011】

本発明の式 (I) で表される化合物 (以下、本発明化合物と記載する場合がある。) は文献未載の新規化合物であり、後記試験例に示すように優れたカルパイ

ン阻害活性を有するため、それらを有効成分として、必要により後記の担体などを組み合わせることにより、医薬として有用である。

#### 【0012】

本発明化合物を含有する医薬は、哺乳動物（例えばヒト、ラット、マウス、ウサギ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコなど）のカルパインが関与する疾患、例えば虚血性疾患、免疫疾患、アルツハイマー病、骨粗鬆症、脳虚血疾患、白内障、緑内障、網膜（脈絡膜）疾患、光凝固による眼球後眼部合併症（例えば黄斑部浮腫、網膜剥離など）などの予防または治療薬として、あるいは血管新生などの抑制または治療薬として有用である。また、本発明化合物は組織移行性に優れ、かつ毒性も非常に低く安全性にも優れている。

#### 【0013】

本発明化合物を含有する医薬は全身的または局所的に投与される。全身的には経口投与の他、静脈内注射、皮下注射、筋肉内注射など非経口的にも投与される。局所的には、皮膚、粘膜、鼻内、眼内などに投与される。

#### 【0014】

本発明化合物を含有する医薬の製剤形態としては、粉末、顆粒、錠剤、カプセル剤、坐剤などの固形剤、およびシロップ剤、注射剤、点眼剤、点鼻剤などの液剤などが挙げられる。顆粒および錠剤として製造する場合には、例えば賦形剤（乳糖、白糖、ブドウ糖、デンプン、結晶セルロースなど）、滑沢剤（ステアリン酸マグネシウム、タルク、ステアリン酸、ステアリン酸カルシウムなど）、崩壊剤（デンプン、カルメロースナトリウム、炭酸カルシウムなど）、結合剤（デンプン糊液、ヒドロキシプロピルセルロース液、カルメロース液、アラビアゴム液、ゼラチン液、アルギン酸ナトリウム液など）などを用いることにより任意の剤形を製造することができる。また、顆粒剤および錠剤には、適当なコーティング剤（ゼラチン、白糖、アラビアゴム、カルナバロウなど）、腸溶性コーティング剤（例えば酢酸フタル酸セルロース、メタアクリル酸コポリマー、ヒドロキシプロピルセルロースフタレート、カルボキシメチルエチルセルロースなど）などで剤皮を施してもよい。

#### 【0015】



カプセル剤として製造する場合には、適当な賦形剤、例えば流動性と滑沢性を向上させるためのステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、タルク、軽質無水ケイ酸など、また加圧流動性のための結晶セルロースや乳糖などの他、上記崩壊剤などを適宜添加したものを均等に混和または粒状もしくは粒状としたものに適当なコーティング剤で剤皮を施したものを充填するか、適当なカプセル基剤（ゼラチンなど）にグリセリンまたはソルビトールなどを加えて塑性を増したカプセル基剤で被包成形することもできる。これらカプセル剤には必要に応じて、着色剤、保存剤〔二酸化イオウ、パラベン類（パラオキシ安息香酸メチル、エチル、プロピルエステル）〕などを加えることができる。カプセル剤は通常のカプセルの他、腸溶性コーティングカプセル、胃内抵抗性カプセル、放出制御カプセルとすることもできる。腸溶性カプセルとする場合、腸溶性コーティング剤でコーティングした化合物または化合物に上記の適当な賦形剤を添加したものを通常のカプセルに充填または、カプセル自身を腸溶性コーティング剤でコーティング、もしくは腸溶性高分子を基剤として成形することができる。

#### 【0016】

坐剤として製造する場合には坐剤基剤（例えばカカオ脂、マクロゴールなど）を適宜選択して使用することができる。

#### 【0017】

シロップ剤として製造する場合、例えば安定剤（エデト酸ナトリウムなど）、懸濁化剤（アラビアゴム、カルメロースなど）、矯味剤（単シロップ、ブドウ糖など）、芳香剤などを適宜選択して使用することができる。

#### 【0018】

注射剤、点眼剤または点鼻剤として製造する場合、医薬上許容される添加物、例えば等張化剤（塩化ナトリウム、塩化カリウム、グリセリン、マンニトール、ソルビトール、ホウ酸、ホウ砂、ブドウ糖、プロピレングリコールなど）、緩衝剤（リン酸緩衝液、酢酸緩衝液、ホウ酸緩衝液、炭酸緩衝液、クエン酸緩衝液、トリス緩衝液、グルタミン酸緩衝液、イプシロンアミノカプロン酸緩衝液など）、保存剤（パラオキシ安息香酸エステル類、クロロブタノール、ベンジルアルコール、塩化ベンザルコニウム、デヒドロ酢酸ナトリウム、エデト酸ナトリウム、

ホウ酸、ホウ砂など)、増粘剤(ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルアルコール、ポリエチレングリコールなど)、安定化剤(亜硫酸水素ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム、エデト酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、アスコルビン酸、ジブチルヒドロキシルエーテルなど)、pH調整剤(塩酸、水酸化ナトリウム、リン酸、酢酸など)などを適宜添加した溶液に溶解または分散することによって製造することができる。

#### 【0019】

上記シロップ剤、注射剤、点眼剤および点鼻剤における添加剤の添加量は、添加する添加剤の種類、用途などによって異なるが、添加剤の目的を達成し得る濃度を添加すればよく、等張化剤は、通常、浸透圧が約229～約343 mOsmとなるよう、約0.5～約5.0 w/v%を添加する。また、緩衝剤は約0.01～約2.0 w/v%程度、増粘剤は約0.01～約1.0 w/v%程度、安定化剤は約0.001～約1.0 w/v%程度になるように添加する。pH調整剤は、適宜添加し、通常pH約3～約9、好ましくは約4～約8になるように添加する。

#### 【0020】

本発明化合物の投与量は対象となる疾患、症状、投与対象、投与方法などにより異なるが、例えば内服剤として成人に投与する場合は、1日数回、1回量約1～約200 mg、好ましくは約10～約100 mgである。また、注射剤として成人に投与する場合は、1日1回、約0.1～約50 mg、好ましくは約1～約30 mgである。また、眼に局所的に使用する場合には、通常約0.001～約1.0 w/v%、好ましくは約0.01～約0.5 w/v%に調製した点眼液を、1回約20～約50  $\mu$ L、1日数回点眼するのがよい。

#### 【0021】

##### 【発明の実施の形態】

本発明を以下の参考例、実施例、試験例及び製剤例に従いさらに詳細に説明するが、本発明はこれらにより何ら限定されるものではない。なお、実施例で述べる化合物の分析値において、融点はYanaco製MP-500V型(補正なし)を用いて測定した。核磁気共鳴スペクトル(NMR)は日本電子製JNM-G

SX270型(270MHz)およびVarian製Gemini2000型(300MHz)を用いて測定した。比旋光度( $[\alpha]_D$ )はHoriba製SEPA-2000型を用いて測定した。元素分析はPerkin Elmer製CHNS/O2400型を用いて測定した。

### 【0022】

#### 【実施例】

参考例1 N-((4-フルオロフェニル)スルホニル)-L-バリル-L-ロイシナール(参考化合物1)

ステップ1: バリン(11.7g, 100mmol)を1M水酸化ナトリウム水溶液(100mL)に溶解し、さらに精製水(150mL)とテトラヒドロフラン(100mL)を加え、氷冷下で攪拌しながら、1M水酸化ナトリウム水溶液(100mL)と4-フルオロベンゼンスルホニルクロリド(17.5g, 90mmol)のテトラヒドロフラン溶液(100mL)を同時に滴下した。この溶液を室温で18時間攪拌し、反応させた。反応終了後、反応液をpH2~3に調整して酢酸エチルで抽出した。抽出液を希塩酸、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで脱水した。酢酸エチルを減圧留去して、残渣をヘキサン-酢酸エチル混液(酢酸エチル1容量に対しヘキサンを約10~約20容量の割合で混合した溶液、以下ヘキサン-酢酸エチル混液というときは同様である。)で洗浄し、N-((4-フルオロフェニル)スルホニル)-L-バリン(15.5g, 56%)を白色結晶として得た。

### 【0023】

ステップ2: N-((4-フルオロフェニル)スルホニル)-L-バリン(15.0g, 55mmol)とN-ヒドロキシコハク酸イミド(7.6g, 66mmol)をテトラヒドロフラン(200mL)に溶解し、氷冷下で攪拌しながら1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(12.6g, 66mmol)のジクロロメタン溶液(200mL)をゆっくりと加えた。この溶液を室温で約4時間攪拌し、反応させた。反応終了後、溶媒を減圧留去して残渣を酢酸エチルに溶解し、希塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで脱水した。酢酸エチルを減圧留去し

て、残渣をヘキサン-酢酸エチル混液で洗浄し、N-((4-フルオロフェニル)スルホニル)-L-バリンN-ヒドロキシコハク酸イミドエステル(17.6 g, 87%)を白色結晶として得た。

#### 【0024】

ステップ3: N-((4-フルオロフェニル)スルホニル)-L-バリンN-ヒドロキシコハク酸イミドエステル(2.0 g, 5.4 mmol)をジクロロメタン(50 mL)に溶解し、ロイシノール(0.82 g, 7.0 mmol)を加えた。この溶液を2時間攪拌し、反応させた。反応終了後、希塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで脱水した。ジクロロメタンを減圧留去して、残渣をヘキサン-酢酸エチル混液で洗浄し、N-((4-フルオロフェニル)スルホニル)-L-バリン-L-ロイシノール(1.9 g, 94%)を白色結晶として得た。

#### 【0025】

ステップ4: N-((4-フルオロフェニル)スルホニル)-L-バリン-L-ロイシノール(1.8 g, 4.8 mmol)をジメチルスルホキシド(20 mL)とジクロロメタン(10 mL)に溶解しジイソプロピルエチルアミン(2.5 g, 19 mmol)を加えた。この溶液を室温で攪拌しながら三酸化硫黄ピリジン錯体(3.1 g, 19 mmol)のジメチルスルホキシド溶液(15 mL)を加え、さらに40分間攪拌した。反応終了後、酢酸エチルを加え、希塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで脱水した。溶媒を減圧留去して、残渣を酢酸エチルから再結晶を行い、参考化合物1(1.1 g, 60%)を白色結晶として得た。

mp 157 °C.  $^1\text{H-NMR}$  (270MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 0.74 (d, 3H,  $J = 5.9$  Hz), 0.80 (d, 6H,  $J = 6.4$  Hz), 0.85 (d, 3H,  $J = 6.8$  Hz), 1.14-1.46 (m, 3H), 1.81-1.93 (m, 1H), 3.56-3.62 (dd, 1H,  $J = 6.6, 9.5$  Hz), 3.80-3.88 (m, 1H), 7.33-7.42 (m, 2H), 7.79-7.86 (m, 2H), 7.96 (d, 1H,  $J = 9.8$  Hz), 8.27 (d, 1H,  $J = 7.3$  Hz), 9.14 (s, 1H). Anal. Calcd for  $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{FN}_2\text{O}_4\text{S}$ : C, 54.82; H, 6.77; N, 7.52. Found: C, 54.82; H, 6.76; N, 7.57.  $[\alpha]_D^{25} +8.99^\circ$  (c = 0.20, DMSO).

## 【0026】

参考例 2 (3S)-N-ブチル-3-((2S)-2-((4-フルオロフェニル)スルホニル)アミノ)-3-メチルブタノイルアミノ)-2-ヒドロキシー-5-メチルヘキサナミド (参考化合物 2)

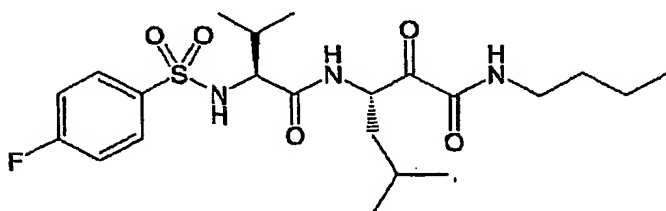
参考化合物 1 (4.0 g, 11 mmol)、n-ブチルイソシアニド (1.0 g, 12 mmol) およびピリジン (3.4 g, 43 mmol) のジクロロメタン溶液 (100 mL) に氷冷下でトリフルオロ酢酸 (2.4 g, 21 mmol) を滴下した。この溶液を室温で 18 時間攪拌した。減圧濃縮後、残渣を酢酸エチルに溶解し、この溶液を 1M 塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで脱水後、減圧濃縮した。この残渣を HPLC システム (カラム; YMC Pack ODS-A 250×20 mm I.D., 移動相; アセトニトリル/水/トリフルオロ酢酸=40:60:0.1) で精製を行い、参考化合物 2 (1.0 g, 20%) を無色結晶として得た。

mp 192.3-194.2 °C. <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 0.69 (d, 3H, J = 6.9 Hz), 0.70 (d, 3H, J = 5.4 Hz), 0.75 (d, 3H, J = 6.0 Hz), 0.79 (d, 3H, J = 6.6 Hz), 0.85 (t, 3H, J = 7.4 Hz), 0.94 (m, 1H), 1.05-1.09 (m, 2H), 1.18-1.27 (m, 2H), 1.30-1.39 (m, 2H), 1.82 (m, 1H), 2.92-3.07 (m, 2H), 3.63 (dd, 1H, J = 9.2, 5.7 Hz), 3.72 (dd, 1H, J = 6.0, 2.6 Hz), 3.93 (m, 1H), 5.65 (d, 1H, J = 6.0 Hz), 7.31-7.36 (m, 3H), 7.53 (t, 1H, J = 5.9 Hz), 7.59 (d, 1H, J = 9.2 Hz), 7.80-7.85 (m, 2H).

## 【0027】

実施例 1 (3S)-N-ブチル-3-((2S)-2-((4-フルオロフェニル)スルホニル)アミノ)-3-メチルブタノイルアミノ)-5-メチル-2-オキソヘキサナミド (化合物 1)

## 【化 4】



参考化合物 2 (1.0 g, 2.1 mmol) のジクロロメタン溶液 (100 mL) にデスマーチン試薬 (Dess-Martin periodinane) (1.3 g, 3.2 mmol) を加えた。この溶液を室温で 18 時間攪拌した。さらに、10% チオ硫酸ナトリウム水溶液 (50 mL) および 10% 炭酸水素ナトリウム水溶液 (50 mL) を加え、10 分間攪拌した。有機層を分離し、1 M 塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで脱水後、減圧濃縮した。残渣をヘキサン/酢酸エチル溶液から結晶化し化合物 1 (0.80 g, 80%) を無色結晶として得た。

mp 107.6–109.9 °C.  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 0.73 (d, 3H,  $J = 5.7$  Hz), 0.79–0.88 (m, 12H), 1.15–1.45 (m, 7H), 1.82 (m, 1H), 3.04–3.11 (m, 2H), 3.59 (m, 1H), 4.75 (m, 1H), 7.33–7.39 (m, 2H), 7.78–7.83 (m, 2H), 7.88 (d, 1H,  $J = 9.3$  Hz), 8.15 (d, 1H,  $J = 6.3$  Hz), 8.65 (t, 1H,  $J = 5.9$  Hz). Anal. Calcd for  $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_5\text{SF}$ : C, 56.03; H, 7.27; N, 8.91. Found: C, 55.99; H, 7.00; N, 8.91.

#### 【0028】

試験例 1  $\mu$ -カルパインおよび m-カルパイン阻害活性の測定

$\mu$ -および m-カルパインの阻害活性は文献 [Anal. Biochem. vol. 208, 387–392 (1993)] に記載された方法に準じて測定した。すなわち、種々の濃度の被験薬を含むジメチルスルホキシド溶液 (2.5  $\mu\text{L}$ ) に、0.5 mg/mL のカゼイン、50 mM のトリス塩酸緩衝液 (pH 7.4)、20 mM のジチオスレイトールおよび 1.0 nmol の  $\mu$ -カルパイン (コスモバイオ製) または m-カルパイン (コスモバイオ製) を含む反応液 (200  $\mu\text{L}$ ) を 96 ウェルプレート上で加えた。そこへ、20 mM の塩化カルシウム水溶液 (50  $\mu\text{L}$ ) を加え、30 °C で 60 分間反応させた。この反応液 (100  $\mu\text{L}$ ) を別の 96 ウェルプレートに移し、精製水 (50  $\mu\text{L}$ ) と 50% の Protein Assay Dye Reagent (BIO-RAD Catalog 500-0006) 水溶液 (100  $\mu\text{L}$ ) を加えて室温で 15 分間放置した後、595 nm で吸光度を測定した。被験薬を含まず同様に処理したものをコントロール値、20 mM 塩化カルシウム水溶液の代わりに 1 mM EDTA 水

溶液 (50  $\mu$ L) を加え同様に処理したものをブランク値とし、50%阻害に必要な量 (IC<sub>50</sub>) を求めた。

$$\text{阻害率} = \{1 - (\text{測定値} - \text{ブランク値}) / (\text{コントロール値} - \text{ブランク値})\} \times 100$$

### 【0029】

#### 試験結果 1

その結果を表 1 に示した。本発明化合物には、優れたカルpain 阻害活性が認められた。

### 【0030】

【表 1】

被験薬 (化合物番号)	50%酵素阻害濃度 [IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)]	
	$\mu$ -カルpain	m-カルpain
1	0.021	0.021

### 【0031】

#### 製剤例 1 錠剤

化合物 1	5 g
デンプン	12 g
乳糖	27.2 g
ステアリン酸マグネシウム	0.4 g

化合物 1、乳糖およびデンプンを加えてよく混和し、湿性錠剤調整法に準じて打錠用顆粒とする。ステアリン酸マグネシウムを加えて打錠し、錠剤 400 錠とする。錠剤は、必要に応じて、腸溶性コーティング剤 (メタアクリル酸コポリマー) でコーティングする。

### 【0032】

#### 製剤例 2 点眼剤

化合物 1	100 mg
ホウ酸	700 mg
ホウ砂	適量

塩化ナトリウム	500mg
エデト酸ナトリウム	0.05mg
塩化ベンザルコニウム	0.0005mg
滅菌精製水	全量 100mL

以上の成分を常法により無菌的に混和して点眼剤とする。

### 【0033】

#### 製剤例3 注射剤

化合物1	100mg
塩化ナトリウム	900mg
1N水酸化ナトリウム	適量
注射用蒸留水	全量 100mL

以上の成分を常法により無菌的に混和して注射剤とする。

### 【発明の効果】

本発明の一般式(I)で表される化合物は、優れたカルパイン阻害活性を有しているため、カルパインが関与する種々の疾患、例えば虚血性疾患、免疫疾患、アルツハイマー病、骨粗鬆症、脳組織障害による疾患、白内障、緑内障、網脈絡膜疾患、光凝固による眼球後眼部合併症、血管新生を伴う疾患などの予防および治療薬として有用である。



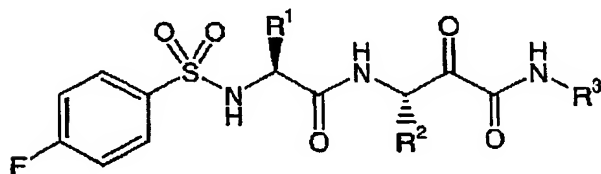
【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 虚血性疾患、免疫疾患、アルツハイマー病、骨粗鬆症、脳虚血疾患、白内障、緑内障、網膜（脈絡膜）疾患、光凝固による眼球後眼部合併症（例えば黄斑部浮腫、網膜剥離など）などの予防または治療薬として、あるいは血管新生などの抑制または治療薬として有用なカルパイン阻害活性を有する化合物を提供することである。

【解決手段】 下記一般式

【化1】



[式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>およびR<sup>3</sup>はそれぞれ低級アルキル基を示す。] で表される化合物および当該化合物を含有するカルパイン阻害剤。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 2 - 2 1 2 2 8 8
受付番号	5 0 2 0 1 0 7 1 0 4 6
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0 0 9 4
作成日	平成 1 4 年 7 月 2 3 日

< 認定情報・付加情報 >

【提出日】	平成14年 7月22日
-------	-------------

次頁無

特願2002-212288

出願人履歴情報

識別番号

[000199175]

1. 変更年月日

1990年 8月22日

[変更理由]

新規登録

住 所

大阪府大阪市中央区平野町2丁目5番8号

氏 名

千寿製薬株式会社

2. 変更年月日

2003年 4月 1日

[変更理由]

名称変更

住所変更

住 所

大阪府大阪市中央区平野町2丁目5番8号

氏 名

千寿製薬株式会社